

Nachweis spezifischer Antikörper
gegen Lipopolysaccharid
von *Pseudomonas aeruginosa*
im menschlichen Serum

Barbara Höbel

1982



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552302_0021

Aus dem Max von Pettenkofer-Institut für Hygiene und
medizinische Mikrobiologie der Universität München

Vorstand: Prof. Dr. Friedrich Deinhardt

Nachweis spezifischer Antikörper gegen
Lipopolysaccharid von *Pseudomonas aeruginosa*
im menschlichen Serum

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Barbara Höbel

aus

Babenhausen

1981

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. A. Fauernfeind

Mitberichterstatter: Prof. Dr. F. Deinhardt

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 14.1.1982



An dieser Stelle möchte ich mich bedanken bei
Herrn Prof. Dr. Friedrich Deinhardt, Vorstand des
Max von Pettenkofer-Institutes, für die Überlassung
eines Arbeitsplatzes an seinem Institut.

Mein besonderer Dank gebührt meinem Doktorvater
Herrn Prof. Dr. A. Bauernfeind
für dessen großzügige und unermüdliche Unterstützung
sowie für seine vielfältigen Anregungen zu meiner
Arbeit.

Danken möchte ich schließlich auch Frau Christl
Petermüller, Frau Renate Jungwirth und Fräulein
Barbara Przyklenk für deren freundliche Beratung
bei der Gewinnung der experimentellen Grundlagen
zu dieser Arbeit.

Einleitung

Einleitung

Einleitung

Einleitung

Einleitung

Meinem Vater

Einleitung

Einleitung

Einleitung

Einleitung

Einleitung

Einleitung

Einleitung

Einleitung

Einleitung

Einleitung

Gliederung

- 1. Einführung
- 2. Material und Methoden
 - 2.1 Material
 - 2.1.1 Serumproben
 - 2.1.1.1 Patienten
 - 2.1.1.2 Kontrollpersonen
 - 2.1.2 Pseudomonas aeruginosa-Stämme
 - 2.1.3 Antigene
 - 2.1.3.1 Antigen für den ELISA
 - 2.1.3.2 Antigen für die Hämagglutination
 - 2.2 Methoden
 - 2.2.1 Enzyme Linked Immunosorbent Assay
 - 2.2.2 Passive Hämagglutination
 - 2.2.3 Tri-Partigen^R-Immundiffusion
 - 2.2.4 Latex-Test

3. Ergebnisse
 - 3.1 Optimale Antigenkonzentration im ELISA
 - 3.2 Antikörpernachweis im ELISA
 - 3.3 Antikörpernachweis durch die Hämegglutination
 - 3.4 Kinetik der Titer der Immunglobulinklassen
 - 3.5 Quantitative Bestimmung der Immunglobuline
4. Diskussion
5. Zusammenfassung
6. Literatur
7. Lebenslauf

Verzeichnis der Tabellen

	Seite
Tab.1: Patienten und <i>Ps. aeruginosa</i> -Isolate	6
Tab.2: Antikörper-Titer der Kontrollpersonen	17
Tab.3: Antikörper-Titer der Patienten	18
Tab.4: Antikörper-Titer von drei Patienten- seren und drei Kontrollseren gegen <i>E.coli</i> -LPS	20
Tab.5: Hämagglutinations-Titer	22
Tab.6: Immunglobulingehalt der Patienten- seren	26
Tab.7: Überlebensdauer der Sepsispatienten und Titer-Höhe	30

Verzeichnis der Abbildungen

Abb.1: Optimale Antigenkonzentration im ELISA	14
Abb.2: Erregernachweis und Verlauf der spezi- fischen Antikörper-Titer beim Patienten D.H.	24

1. Einführung

Pseudomonas aeruginosa ist bekannt als ein fakultativ pathogener Keim (HØIBY 1979), der ubiquitär in der Natur vorkommt (SCHROTH 1977). Bei hospitalisierten Patienten wird *Ps. aeruginosa* mit zunehmender Häufigkeit isoliert (KNAPP 1981). Er kann bei diesen Patienten äußerst schwere Infektionen hervorrufen, wie zum Beispiel Sepsis oder sekundäre Pneumonien und Ursache chronischer Entzündungen, zum Beispiel des Respirationstraktes sein. Dies ist häufig der Fall bei Patienten mit zystischer Fibrose (NETER 1974). Ebenso aber kann es sich beim Nachweis des *Ps. aeruginosa* um eine oberflächliche, harmlose Kolonisation handeln, sei es auf Hautwunden oder in den Bronchien (YOUNG 1972b).

Es kann klinisch sehr schwierig sein, gerade eine chronische Infektion mit geringen Entzündungserscheinungen von einer Kolonisation zu unterscheiden. Diese Differenzierung jedoch ist äußerst wichtig für die Therapie, die in aller Regel antibiotisch sein wird. Bei Kolonisation durch *Ps. aeruginosa* braucht der Patient den möglichen Nebenwirkungen einer antibiotischen Therapie nicht ausgesetzt zu werden.

Im Falle einer Infektion setzt sich der Körper mit dieser auseinander. Das bedeutet, daß es zur Bildung von Antikörpern gegen den Ps. aeruginosa kommt. Voraussetzung dafür allerdings ist, daß die Abwehrkräfte nicht durch primäre oder sekundäre Immuninsuffizienz oder durch immunsuppressive Therapie gestört sind.

Durch den Nachweis dieser Antikörper müßte es demnach möglich sein, Infektion und Kolonisation zu trennen. Auf die große Bedeutung dieser Unterscheidung wurde von NETER 1974 hingewiesen.

Es soll hier untersucht werden, inwieweit mit Hilfe des Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA), der sich als sensitive und diagnostisch wertvolle Methode erwiesen hat (VOS 1979, MANSHEIM 1979, LAMB 1979, MUTCHNICK 1981, RISSING 1979, KEREN 1979, BARRETT 1980), im Patientenserum spezifische Antikörper gegen Ps. aeruginosa nachzuweisen sind.

GONGGRIJP et al. (1981) haben im Tierversuch festgestellt, daß - gleichgültig welchen Impfstoff (1. Protein + LPS, 2. RNA + Protein, 3. LPS) sie gewählt haben - immer Antikörper gebildet werden, die gegen das Lipopolysaccharid gerichtet sind. Ebenso fand FISHER (1977), daß die Antikörper im Serum immunisierter Spender zweifels-

frei gegen das O-Antigen gerichtet sind. Deshalb wurde hier als Antigen das Lipopolysaccharid gewählt.

Der ELISA wird mit der passiven Hämagglutination, einer in der Klinik seit langem eingeführten Methode, verglichen. Es soll untersucht werden, ob der ELISA oder die passive Hämagglutination die geeignetere Methode zum Nachweis spezifischer Antikörper gegen *Ps. aeruginosa* ist.

2. Material und Methoden

2.1 Material

2.1.1 Serumproben

2.1.1.1 Patienten

Getestet wurden Serumproben von 23 Patienten, bei denen Ps. aeruginosa isoliert worden war. Die Blutabnahme erfolgte zwischen 1 und 60 Tage nach dem ersten Nachweis von Ps. aeruginosa.

2.1.1.2 Kontrollgruppe aus gesunden Freiwilligen

Als Kontrolle wurden Serumproben von 10 gesunden Erwachsenen untersucht (6 Frauen im Alter von 19 - 55 Jahren, 4 Männer im Alter von 25 - 45 Jahren).

2.1.2 Ps. aeruginosa-Stämme

Die Ps. aeruginosa-Stämme wurden von Patienten der inneren und chirurgischen Abteilungen sowie der Intensivpflegestationen folgender Kliniken isoliert:

- Chirurgische Klinik Innenstadt München
- Medizinische Klinik Innenstadt München
- Chirurgische Poliklinik München
- Medizinische Poliklinik München
- Krankenhaus Harlaching München
- Krankenhaus Neuperlach München
- Krankenhaus Martha Maria München
- Klinikum Stadt Nürnberg, 1. Chirurgische Klinik

Einzelheiten hinsichtlich der Patienten und der isolierten Stämme sind Tab. 1 zu entnehmen.

Tab.1: Patienten und Ps. aeruginosa-Isolate

Patient	Diagnose	Sepsis	Entnahmeort	O-Serotyp	Pyocin- typ*	1.Ps.aeruginosa Nachweis	1.Serum- probe vom
G.W.,m,46 J.	gastrointestinal- nale Blutung	ja	endotracheale Absaugung	0-18 0-18 0-6	1h 1i 6w	17.03.81	23.04.81 29.04.81
D.H.,m,46 J.	Peritonitis Pneumonie	ja	endotracheale Absaugung Abdomenabstrich Urin	0-5/0-16 0-6	1c 8f	02.03.81	05.03.81 08.05.81 20.05.81 02.06.81
L.H.,m,47 J.	Peritonitis	ja	endotracheale Absaugung Abdomenabstrich Blutkultur(prä- final)	0-10	10c	11.11.80	10.12.80
G.T.,m,52 J.	Ulcus pepti- cum Jejuni		endotracheale Absaugung	0-10	1b	07.02.81	24.02.81
L.K.,m,42 J.	gastrointestinal- nale Blutung Pneumonie		endotracheale Absaugung	0-11		19.05.81	03.06.81
W.B.,m,54 J.	Gastrointestinal- nale Blutung	ja	endotracheale Absaugung	0-8 0-8	18l 1c	19.02.81	20.02.81
St.Ch.,w,54J.	gastrointestinal- nale Blutung Pneumonie	ja	Sputum	0-10	1b	08.02.81	12.02.81
Sch.He.,m,66J.			Sputum	0-1	35w	16.02.81	24.02.81
St.A.,w,74 J.	Hyperthyreose Emphysebron- chitis	ja	Pleura Drain	0-5/0-16	77f	11.02.81	12.02.81

Patient	Diagnose	Sepsis	Entnahmeort	O-Serotyp	Pyocin- typ*	1.Ps.aeruginosa Nachweis	1.Serum- probe vom
B.K., w, 70 J.	Cholezystek- tomie	ja	Blutkultur	0-10		23.05.81	24.05.81
W.M., w, 42 J.	Lyell-Syndrom	ja	Hautabstrich	0-9	1m	28.04.81	04.05.81
M.			Atemwege, Urin	0-2	1c		24.03.81
F.	Rectumexstir- pation		Laparatomie- wunde	0-15	25f		24.03.81
H.H., m, 62 J.	Cholezystek- tomie	ja	Laparatomie- wunde	rauh	10c	12.03.81	12.03.81
S.K., w, 45 J.	Nephrektomie		Laparatomie- wunde	0-4	1a	11.11.80	10.12.80
P.E., w, 41 J.			Harnwege	0-10	1b	14.11.80	11.80
St.M., w, 75J.	arterielle Ver- schlußkrankheit		Gangrän Fuß	0-10		15.11.80	11.80
Wa.M., w, 70J.	Phlegmone		Fußrücken	0-3	62k	03.02.81	04.03.81
K.A., w, 74 J.	inf. Hüftendo- prothese		Abszeßdrain	0-10	1a	13.01.81	12.03.81
R.J., m, 78 J.	arterielle Ver- schlußkrankheit		Gangrän Zehe	0-6	23w		03.03.81
Sch.H., m, 64J.	Mundbodencarcinom		Mundschleim- haut	0-6	22e	09.05.80	11.80
Sch.M., w, 44J.	Verbrennungen		Hautabstrich	0-6	23w	16.02.81	04.03.81
T.F., m			Ohr	0-18	1h	11.80	19.11.80

*typisiert nach BAUERNFEIND, A. et al. (1978)
BAUERNFEIND, A., BURROWS, J.R. (1978)

2.1.3 Antigen

2.1.3.1 Antigen für ELISA

Von den 19 Ps. aeruginosa O-Serotypen wurde das O-Antigen (Lipopolysaccharid) präpariert modifiziert nach der Methode von WESTPHAL und LÜDERITZ (1952).

Die Bakterien wurden in 2,5 l Tryptic Soy Broth (TSB) geschüttelt (Schüttelfrequenz 240 UpM, 37°C), bis sie die frühstationäre Phase erreicht hatten (meist nach 5-7 Stunden). Das Feuchtgewicht der abzentrifugierten Bakterien (8000 UpM, 45 Minuten, 4°C) betrug im Durchschnitt 21,5 g aus einer 2,5 l-Suspension. Das Bakterien-sediment wurde in 100 ml sterilem Aqua dest. resuspendiert. Nach Zugabe von 100 ml 90%igem Phenol wurden die Bakterien 1 Stunde lang bei 68°C geschüttelt und so in zwei Phasen aufgetrennt. Die phenolische Phase enthält Proteine, die wäßrige Phase Lipopolysaccharide und Nukleinsäuren. Nach Zentrifugation (8000 UpM, 20 Minuten, 4°C) wurde die wäßrige Phase abgezogen und dialysiert (12 Stunden gegen Fließwasser, 12 Stunden gegen Aqua dest.). Dann wurde die wäßrige Phase mit 6%igem Cetavlon (Cetyltrimethylammoniumbromid, Endkonzentration 1%) versetzt, um die Nukleinsäuren auszufällen.

Nach erneuter Zentrifugation (8000 UpM, 20 Minuten, 4°C) wurde der das LPS enthaltende Überstand durch

zwei Alkoholfällungen weiter gereinigt. Dazu wurde der Überstand auf eine Endkonzentration von 1 M NaCl gebracht und das siebenfache bis neunfache Volumen Äthanol (96%ig) dazugegeben. Das Kochsalz wurde durch Dialyse gegen Aqua dest. (ca. 12 Stunden mit mehrmaligem Austausch des Aqua dest.) entfernt. Das Lipopolysaccharid wurde lyophilisiert und bei 4°C im Exsiccator aufbewahrt. Der Nukleinsäureanteil des Lipopolysaccharids wurde anhand der Extinktion bei 260 nm kontrolliert und betrug im Durchschnitt noch 3,9%. Bei Lipopolysacchariden mit einem Nukleinsäureanteil von über 10% wurde eine zweite Cetavlonfällung durchgeführt. Dazu wurde das getrocknete LPS in Aqua dest. gelöst (1 mg/ml) und erneut mit 6%igem Cetavlon (Endkonzentration 1%) versetzt. Nach einigen Tagen wurden die Nukleinsäuren abzentrifugiert (8000 UpM, 20 Minuten, 4°C) und der Überstand mit dem LPS gegen Aqua dest. dialysiert (ca. 12 Stunden). Anschließend wurde das LPS wieder lyophilisiert. Auf diese Weise gelang es, den Nukleinsäureanteil von durchschnittlich 28,4 % auf 5,9 % zu senken. 2 mg Antigen wurden in 2 ml physiologischer Kochsalzlösung gelöst und für die Versuche entsprechend weiterverdünnt.

2.1.3.2 Antigen für die passive Hämagglutination

Von jedem Patientenstamm und von jedem O-Serotyp wurde

das Antigen für die passive Hämagglutination präpariert. dazu wurde eine Flüssigkultur der Bakterien (in TSB), die über Nacht gewachsen war, auf optische Dichte 0,1 eingestellt (Beckman Model C Colorimeter) und dann 1:10 verdünnt auf optische Dichte 0,01 (10×10^6 Koloniebildner/ml). Von dieser Suspension wurden je 300 μ l auf TSA-Platten (pro Stamm 4 Platten) ausgestrichen. Der über Nacht dicht gewachsene Bakterienrasen wurde in Zentrifugenröhrchen gebracht (je 2 Platten in ein Röhrchen) und in physiologischer Kochsalzlösung suspendiert. (pro Röhrchen 20 ml). Durch fünfmaliges Zentrifugieren (6000 UpM, 15 Minuten, 4°C) und anschließendes Resuspendieren in dem gleichen Volumen wurden die Bakterien gereinigt. Darauf wurde die Bakteriensuspension eine Stunde lang autoklaviert (121°C, 1 atü). Durch Zentrifugation (40 Minuten, 15 000 UpM, 4°C) wurden Zellmaterial und der u.a. das LPS enthaltende Überstand getrennt. Das Sediment wurde im gleichen Volumen physiologischer Kochsalzlösung resuspendiert und nochmals zentrifugiert. Die beiden Überstände zusammen wurden als Antigenlösung verwendet.

2.2 Methoden

2.2.1 Enzyme Linked Immunosorbent Assay

Der ELISA wurde durchgeführt nach der Methode von VOLLER et al. (1976). Die Mikrotiterplatten wurden mit 50 μ l Antigen in der Verdünnung 1:100 (in Carbonatpuffer 0,1 M, pH 9,5; siehe 3.1) versetzt und über Nacht bei 4°C aufbewahrt. Nach drei Waschvorgängen (Waschpuffer: phosphatgepufferte physiologische Kochsalzlösung + 0,2% Tween 20) wurden 50 μ l Serum in den Verdünnungen 1:100, 1:1000, 1:10 000 einpipettiert und die Platten bei 37°C 2 Stunden lang inkubiert. Serum und Antihumanglobuline wurden in PBS, das 3% Tween und 1% Rinderserumalbumin (BSA) enthielt, verdünnt. Nach der Inkubation wurde erneut dreimal gewaschen, und dann wurden die Peroxidase-konjugierten Antihumanglobuline (IgG, IgA, IgM von Boehringer) mit einer 50 μ l-Tropfpipette aufgebracht. Wieder wurden die Platten 2 Stunden bei 37°C inkubiert.. Nach viermaligem Waschen wurden 125 μ l Substrat (10 mg Orthophenylendiamin + 10 μ l H₂O₂ in 0,1 M Phosphatpuffer, pH 6,0) dazupipettiert. Die Enzymreaktion wurde durch Zugabe von 125 μ l 2 M H₂SO₄ nach exakt 15 Minuten abgestoppt. Der Farbumschlag wurde im Photometer (Titertek Multiskan) bei 510 nm gemessen.

2.2.2 Passive Hämagglutination

Die passive Hämagglutination wurde wie von ADAM (1972) durchgeführt: 0,2% Humanerythrozyten der Blutgruppe O Rh+ in physiologischer Kochsalzlösung wurden mit dem gleichen Volumen Antigen versetzt und eine halbe Stunde im Wasserbad inkubiert bei 37°C. Die Erythrozyten wurden dreimal gewaschen, um überschüssiges Antigen zu entfernen, und in physiologischer Kochsalzlösung resuspendiert. Das Serum wurde beginnend bei der Verdünnung 1:5 in einer Mikrotiterplatte weiterverdünnt (1:5, 1:10, 1:20, ...). Für die Serumverdünnung wurde physiologische NaCl mit 0,2% BSA verwendet. Jeweils 25 µl Serum wurden mit 25 µl 0,1%iger Erythrozytensuspension versetzt. Die Platte wurde bei 37°C 30 Minuten lang inkubiert, und die Hämagglutination nach 20 Stunden abgelesen.

Jedes Patientenserum wurde mit dem Antigen vom Patientenstamm und mit dem Antigen vom homologen Serotyp getestet.

2.2.3 Tri-Partigen^R-Immendiffusion

Mit der Tri-Partigen^R Immendiffusionsplatte (Behringwerke Marburg) wurde im Patientenserum der Gehalt an IgG, IgA und IgM quantitativ bestimmt. Der Versuch wurde nach Vorschrift der Behringwerke durchgeführt.

2.2.4 Latex-Test

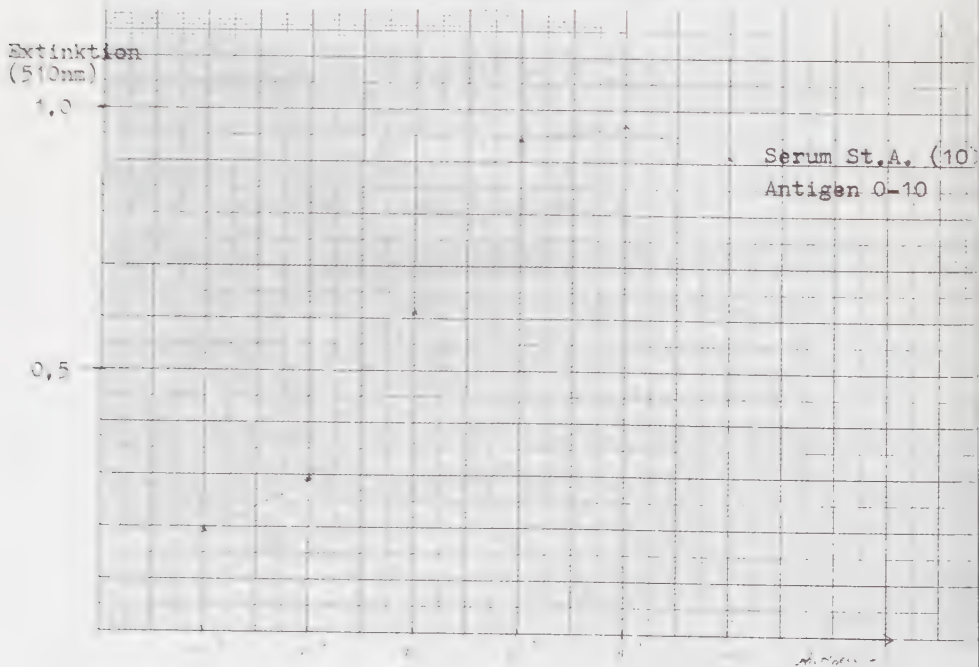
Mit Hilfe des Latex-Testes (Behringwerke Marburg) wurden die Patientensera nach Rheumafaktoren untersucht. Auch dieser Versuch wurde nach Vorschrift der Behringwerke durchgeführt.

3. Ergebnisse

3.1 Optimale Antigenkonzentration im ELISA

Die optimale Antigenkonzentration wurde durch Titration bestimmt. Antigen wurde in Konzentrationen zwischen 0,5 ng und 50 µg mit einer konstanten Serumverdünnung (1:100) getestet. Ein linearer Anstieg der Extinktion wurde bei Antigenmengen zwischen 5 ng (1:10 000) und 0,5 µg (1:100) beobachtet. Ab Antigenkonzentrationen von über 0,5 µg ging die Extinktion zurück (Abb.1). Deshalb wurde als Testkonzentration für alle weiteren Versuche eine Antigenkonzentration von 0,5 µg gewählt (entsprechend MANSHEIM 1979).

Abb.1: Optimale Antigenkonzentration im ELISA



3.2 Antikörpernachweis im ELISA

Das Patientenserum wurde mit dem LPS getestet, das dem O-Serotyp des Patientensammes entsprach. Gleichzeitig wurde mit demselben LPS ein sogenanntes Negativserum untersucht (das Serum stammte von einem eineinhalbjährigen Kind und lieferte mit keinem LPS höhere Extinktionen als 0,5 bei einem Mittelwert von 0,253). Jedes Serum und das Negativserum wurden in drei verschiedenen Verdünnungen verwendet (1:1000, 1:10 000, 1:100 000). Aus den Extinktionen von Patientenserum und Negativserum wurde der Quotient gebildet, der im weiteren als Titer bezeichnet wird.

Das Serum von den Probanden wurde mit zwei Mischantigenen getestet (O-5 + O-16, O-2 + O-6). Die Kombination O-5/O-16 wurde gewählt, weil der Serotyp O-5 der am häufigsten auftretende Ps. aeruginosa-Stamm ist und weil unter den Patientenstämmen zwei Stämme auftraten, die mit O-5 und O-16 kreuzreagierten. O-2 und O-6 wurden kombiniert, weil sie nach O-5 die häufigsten Serotypen sind (BAUERNFEIND 1981).

In allen drei untersuchten Immunglobulinfraktionen (IgG, IgA, IgM) konnten Antikörper gegen Ps. aeruginosa nachgewiesen werden. Die Bestimmung der IgG-Antikörper brachte folgende Ergebnisse: Kein Probandenserum wies in der Serumkonzentration 1:10 000 einen Titer von

über 2,0 auf (Mittelwert 1,12) (Tab.2), während sich bei den Patientenseren in der gleichen Serumkonzentration Quotienten bis 9,77 ergaben (Tab.3). Als positiv wurde deshalb ein Serum bezeichnet, das im IgG in der Verdünnung 1:10 000 einen Titer von $\geq 2,0$ ergab.

Beim IgA und IgM konnten positive und negative Seren eindeutig in der Verdünnung 1:1000 unterschieden werden. Die Titer der Kontrollpersonen blieben in dieser Verdünnung wiederum alle unter 2,0, so daß auch beim IgA und IgM die positiven Seren Quotienten von über 2,0 aufweisen mußten (Tab.3).

Tab.2: Antikörper-Titer der Kontrollpersonen

Proband	Antigen	IgG Serumverdün- nung 10^{-4}	IgA Serumverdün- nung 10^{-3}	IgM Serumverdün- nung 10^{-3}
A,w	0-5/0-16	1,91	1,03	1,09
	0-2/0-6	1,92	1,31	1,49
B,w	0-5/0-16	1,42	1,20	1,62
	0-2/0-6	1,71	1,55	1,95
C,m	0-5/0-16	1,06	0,89	0,81
	0-2/0-6	1,68	1,04	0,96
D,m	0-5/0-16	0,60	0,68	0,70
	0-2/0-6	0,80	0,84	0,87
E,w	0-5/0-16	1,22	1,19	1,48
	0-2/0-6	1,24	1,37	1,60
F,m	0-5/0-16	0,63	0,68	0,41
	0-2/0-6	0,87	0,84	1,22
G,m	0-5/0-16	0,64	0,64	0,68
	0-2/0-6	0,80	0,79	0,81
H,w	0-5/0-16	0,87	0,97	1,00
	0-2/0-6	0,98	0,96	1,01
I,w	0-5/0-16	0,94	1,10	1,59
	0-2/0-6	1,15	1,15	1,44
K,w	0-5/0-16	0,88	1,06	1,03
	0-2/0-6	0,99	1,02	1,07

Tab.3: Antikörper-Titer der Patienten

Patient	Serum- probe vom	LPS 'des Serotyps	IgG Serumver- dünnung 10^{-4}	IgA Serumver- dünnung 10^{-3}	IgM Serumver- dünnung 10^{-3}
G.W.	02.03.81	0-18	1,10	1,45	2,12
		0-6	1,42	1,61	1,43
	29.04.81	0-18	1,23	1,39	2,17
		0-6	1,52	1,60	1,50
D.H.	05.03.81	0-5	2,55	1,03	1,02
		0-16	2,99	1,08	0,97
		0-6	1,53	1,25	1,49
	08.05.81	0-5	9,59	5,12	1,78
		0-16	9,09	4,71	1,74
		0-6	1,33	1,53	4,07
	20.05.81	0-5	9,21	6,11	1,97
		0-16	8,79	7,59	1,98
		0-6	1,30	1,57	3,48
	02.06.81	0-5	8,62	8,08	1,55
		0-16	8,19	8,57	1,63
		0-6	1,19	2,94	2,20
L.H.	10.12.80	0-10	7,63	4,93	5,53
G.T.	24.02.81	0-10	1,04	1,65	1,36
L.K.	03.06.81	0-11	0,92	1,41	2,59
W.B.	20.02.81	0-8	2,09	8,02	1,03
St.Ch.	12.02.81	0-10	1,23	4,38	7,40
Sch.He.	24.02.81	0-1	1,57	3,68	1,27
St.A.	12.02.81	0-5	0,98	0,81	1,10
		0-16	1,05	1,06	1,07
B.K.	24.05.81	0-10	1,19	1,16	1,14
W.M.	04.05.81	0-9	0,96	0,99	1,44
M.	24.03.81	0-2	9,77	6,85	3,20
F.	24.03.81	0-15	0,80	0,94	1,04
H.H.	12.03.81	0-10	1,04	1,19	0,83

Fortsetzung Tab.3:

Patient	Serum- probe vom	LPS des Serotyps	IgG Serumver- dünnung 10^{-4}	IgA Serumver- dünnung 10^{-3}	IgM Serumver- dünnung 10^{-3}
S.K.	10.12.80	O-4	1,75	1,02	1,17
P.E.	11.80	O-10	1,27	1,38	1,88
St.M.	11.80	O-10	2,00	1,46	1,28
Wa.M.	04.03.81	O-3	1,62	1,66	2,67
K.A.	12.03.81	O-10	1,07	0,99	0,76
R.J.	03.03.81	O-6	1,53	2,80	1,24
Sch.H.	11.80	O-6	1,98	14,46	2,24
Sch.M.	04.03.81	O-6	1,08	1,50	0,94
T.F.	19.11.80	O-18	0,87	1,10	2,31

Einen Hinweis darauf, ob die nachgewiesenen Antikörper spezifisch gegen das Endotoxin von *Ps. aeruginosa* gerichtet sind oder mit LPS von Enterobacteriaceae kreuzreagieren, sollte durch folgende Untersuchung erbracht werden: Seren von den drei Patienten mit den höchsten Antikörper-Titern wurden im ELISA mit Lipopolysaccharid von *E.coli* (Serotyp O-55) getestet. Mit dem gleichen Antigen wurden drei Kontrollseren untersucht. Aus Tab.4 geht hervor, daß kein Serum einen erhöhten Titer gegen das *E.coli*-LPS aufweist.

Tab.4: Antikörper-Titer von drei Patientenseren und drei Kontrollseren gegen *E.coli*-LPS (Serotyp O-55)

	IgG Serumver- dünnung 10^{-4}	IgA Serumver- dünnung 10^{-3}	IgM Serumver- dünnung 10^{-3}
Sch.He.	0,95	1,38	0,99
Sch.H.	0,80	1,12	0,84
W.B.	1,05	1,17	0,96
A	0,81	0,83	1,08
D	0,97	1,14	1,12
H	0,95	0,89	1,17

3.3 Antikörpernachweis durch Hämagglutination

Von 21 getesteten Seren waren nur drei positiv. Zwei von drei Seren reagierten nur mit dem Antigen vom Patientenstamm, ein Serum sogar nur mit dem homologen Serotyp und nicht mit dem patienteneigenen Stamm.
(Tab.5)

Tab.5: Hämagglutinations-Titer

Patient	Titer mit dem Antigen vom Patientenstamm	Titer mit dem Antigen vom homologen Serotyp
G.W.	< 1:5	< 1:5
D.H.	< 1:5	< 1:5
L.H.	< 1:5	< 1:5
G.T.	< 1:5	< 1:5
W.B.	< 1:5	< 1:5
St.Ch.	< 1:5	< 1:5
Sch.He.	1:640	< 1:5
St.A.	< 1:5	< 1:5
W.M.	1:5	< 1:5
M.	< 1:5	< 1:5
F.	< 1:5	< 1:5
H.H.	< 1:5	< 1:5
S.K.	< 1:5	< 1:5
P.E.	< 1:5	< 1:5
St.M.	< 1:5	< 1:5
Wa.M.	< 1:5	< 1:5
K.A.	< 1:5	< 1:5
R.J.	1:40	< 1:5
Sch.H.	< 1:5	1:10240
Sch.M.	< 1:5	< 1:5
T.F.	< 1:5	< 1:5

3.4 Zeitliches Auftreten der Immunglobuline

Von einem Patienten (D.H.) konnten mehrere Blutproben untersucht werden. Dabei wurden Unterschiede im zeitlichen Auftreten der Immunglobuline deutlich: Zu Beginn der Infektion mit *Ps. aeruginosa* traten Antikörper vom Typ IgM auf, die im weiteren Verlauf der Erkrankung durch IgG- und IgA-Antikörper ersetzt werden.

Am 02.03.81 wurde bei dem Patienten D.H. in der endotrachealen Absaugung ein *Ps. aeruginosa* isoliert (kreuzreagierend mit O-5 und O-16). Die Blutabnahme erfolgte am 05.03.81. Im ELISA ergab sich ein schwach positiver Titer beim IgG. IgA und IgM waren negativ.

Am 02.05.81 wurde ein neuer Serotyp (O-6) isoliert. Weitere Blutabnahmen erfolgten am 08.05.81, am 20.05.81 und am 02.06.81. Die zweite Serumprobe ergab einen stark angestiegenen Titer im IgG und positives IgA für O-5/O-16. Antikörper gegen O-6 sind nur im IgM festzustellen.

Die dritte Serumprobe lieferte unveränderte Titer.

Bei der vierten Serumprobe ließ sich für O-6 ein rückläufiger IgM-Titer nachweisen, der Quotient im IgA war angestiegen, IgG war noch negativ. (Abb.2)

Abb. 2: Erregernachweis und Verlauf der spezifischen Antikörpertiter beim Patienten D.H.

Titer

Nachweis des
Ps.aeruginosa 0-6

→



Titer

Antigen 0-5/0-10
Antigen 0-5/0-10

IgG (10⁻⁴)
IGA (10⁻³)

Antigen 0-5/0-10
Antigen 0-5/0-10

IgG (10⁻⁴)
IGA (10⁻³)

Antigen 0-5/0-10
Antigen 0-5/0-10

IgG (10⁻⁴)
IGA (10⁻³)

Antigen 0-5/0-10
Antigen 0-5/0-10

IgG (10⁻⁴)
IGA (10⁻³)

Antigen 0-5/0-10
Antigen 0-5/0-10

1,0 Nachweis des Ps.aeruginosa 0-5/0-16

Antigen 0-5/0-10
Antigen 0-5/0-10

IgG (10⁻⁴)
IGA (10⁻³)

Antigen 0-5/0-10
Antigen 0-5/0-10

IgG (10⁻⁴)
IGA (10⁻³)

Antigen 0-5/0-10
Antigen 0-5/0-10

IgG (10⁻⁴)
IGA (10⁻³)

Antigen 0-5/0-10
Antigen 0-5/0-10

IgG (10⁻⁴)
IGA (10⁻³)

Antigen 0-5/0-10
Antigen 0-5/0-10

3.5 Quantitative Bestimmung der Immunglobuline im Patientenserum

Um die allgemeine Abwehrlage des Patienten erfassen zu können, wurden IgG, IgA und IgM mit der Tri-Partigen^R Immundiffusionsplatte quantitativ bestimmt. Die Ergebnisse zeigt Tab.6.

3.6. Nachweis des Rheumafaktors im Patientenserum

Nur bei einem Patienten (L.H.) war ein positiver Rheumafaktor in der Serumverdünnung 1:20 nachzuweisen. Der Latex-Test fiel bei diesem Patienten bereits in der Verdünnung 1:40 wieder negativ aus. Bei allen anderen Patientenseren war der Latex-Test negativ, das heißt es konnte kein Rheumafaktor nachgewiesen werden.

Tab.6: Immunglobulingehalt der Patientenserum

Patient	IgG (IU/ml) Normalwert 92-207	IgA (IU/ml) Normalwert 54-264	IgM (IU/ml) Normalwert	69-287 IU/ml	80-322 IU/ml
G.W.	440	210	200		
D.H.	530	195	270		
	240	440	350		
	115	290	135		
	170	140	110		
L.H.	180	800	110		
W.B.	135	320	820		
St.Ch.	145	290	200		
Sch.He.	56	88	380		
St.A.	56	50	76		
W.M.	210	440	135		
M.	88	75	350		
F.	70	96	76		
H.H.	100	70	110		
S.K.	280	210	780		
P.E.	315	440	160		
St.M.	125	1200	160		
Wa.M.	180	115	95		
K.A.	155	290	180		
R.J.	195	540	280		
Sch.H.	66	105	70		
Sch.M.	207	540	410		
L.K.	145	640	125		
B.K.					

4. Diskussion

Antikörper gegen *Ps. aeruginosa* sind von mehreren Untersuchern mit unterschiedlichen Methoden nachgewiesen worden. (HØIBY 1979). Der ELISA wurde nur einmal, nämlich von DOI (1976) benutzt, während die passive Hämagglutination, die am längsten eingeführte und vergleichsweise wenig aufwendige Methode, am häufigsten benutzt worden ist.

DOI (1976) wies aber schon auf einen bedeutenden Unterschied zwischen diesen beiden Methoden hin. Er konnte mit Hilfe des ELISA im menschlichen Serum IgA-Antikörper nachweisen, die sich bei der Hämagglutination seiner Beobachtung entzogen hatten. Denn während bei der Hämagglutination in der Hauptsache IgM-Antikörper erfaßt werden, können im ELISA IgG-, IgA- und IgM-Antikörper unterschieden werden.

Ob mit der passiven Hämagglutination spezifische Antikörper gegen *Ps. aeruginosa* nachgewiesen werden können, ist umstritten. NETER (1974) konnte mit der Hämagglutination Antikörper nachweisen, die spezifisch gegen einen bestimmten Serotyp von *Ps. aeruginosa* gerichtet waren. Im Gegensatz dazu fand SHIGETA (1978) Antikörper gegen einen bestimmten Serotyp nicht nur bei Patienten, die mit diesem Serotyp infiziert waren, sondern auch bei Patienten, bei denen andere Serotypen nachgewiesen worden waren, dazu bei gesunden Erwachsenen. Wegen

dieser unspezifischen Reaktionen hält SHIGETA die Hämagglutination für den Nachweis spezifischer Antikörper bei einer Ps. aeruginosa-Infektion nicht für nützlich. Daß der ELISA die empfindlichere Methode ist, um Antikörper gegen Ps. aeruginosa nachzuweisen, zeigen unsere Ergebnisse. Während bei der passiven Hämagglutination nur drei von 21 Seren positiv waren, konnten im ELISA bei 13 von 23 Patienten Antikörper gegen Ps. aeruginosa festgestellt werden.

Unter diesen Versuchsbedingungen ist das Serum als positiv anzusehen, das in den Verdünnungen 1:1000, beziehungsweise beim IgG 1:10 000 Titer $\geq 2,0$ ergibt. Die Titer der Kontrollseren blieben alle unter 2,0.

Die Patienten ließen sich anhand klinischer Daten und der Ergebnisse des ELISA in drei Gruppen einteilen:

1. Patienten mit allen klinischen Zeichen einer Sepsis (streuender Entzündungsherd wie Pneumonie oder Peritonitis, Temperaturen $> 38,5^{\circ}\text{C}$, Leukozytose $> 15\ 000$ oder Leukopenie $< 5\ 000$, Thrombopenie)
2. Patienten mit oder ohne klinische Entzündungszeichen und positiven Antikörper-Titern im ELISA
3. Patienten ohne klinische Entzündungszeichen mit negativen Antikörper-Titern im ELISA

1. Patienten mit Sepsis

Zu dieser Gruppe gehörten G.W., D.H., L.H., W.B., St.A., St.Ch., B.K., W.M. und H.H. Mit Ausnahme der Patienten

B.K., W.M. und H.H. waren alle Sepsispatienten an einer klinisch und röntgenologisch gesicherten Pneumonie erkrankt. Bei diesen Patienten ließen sich neben hohen IgG-Titern die höchsten IgA-Titer nachweisen.

Daß der Patient G.W. trotz negativer IgG- und IgA-Titer die Sepsis überlebt hat, ließe sich dahingehend interpretieren, daß nicht *Ps. aeruginosa* für die klinischen Erscheinungen verantwortlich war, sondern eine der anderen isolierten Species (*Proteus*, Enterokokken, Klebsiellen). Dafür könnte auch sprechen, daß *Ps. aeruginosa* auch nach Abklingen aller klinischen Entzündungsercheinungen weiter zu isolieren war.

Die negativen Titer der Patientin B.K. können in Zusammenhang gebracht werden mit der Tatsache, daß *Ps. aeruginosa* nur einmal aus der Blutkultur zu isolieren war und die klinische Symptomatik nach einem Tag wieder abklang.

Daß die Titer der Patienten W.M., H.H. und St.A. nicht erhöht sind, kann folgendermaßen interpretiert werden:

1. Eine Antikörperbildung hat noch nicht stattgefunden, weil die Zeit zwischen Erstisolation des *Ps. aeruginosa* und der Blutabnahme zu kurz war. Sie betrug nur wenige Stunden (H.H.), bzw. 1 Tag (St.A.) und 6 Tage (W.M.).

Die Antikörperbildung ist aber frühestens nach 5-6 Tagen nachzuweisen, meist erst nach 2-3 Wochen (HØIBY 1979, YOUNG 1970, CROWDER 1970). Dies ist auch zu erkennen am Titer-Verlauf beim Patienten D.H.

2. Nicht *Ps. aeruginosa* ist für die Sepsis verantwortlich, sondern ein anderer Keim der in den meisten Fällen vorliegenden Mischinfektionen. (siehe auch Patient G.W.)

3. Bei der Patientin W.M. war die Abwehrlage herabgesetzt. Die Bestimmung des Immunglobulingehaltes ergab folgende Werte: IgG 56 IU/ml, IgA 50 IU/ml, IgM 76 IU/ml. Alle drei Immunglobulinfraktionen waren also pathologisch erniedrigt.

Obwohl hohe Antikörper-Titer für eine bessere Prognose der Erkrankung sprechen (HØIBY 1979, YOUNG 1974a), verliefen die Sepsiserkrankungen aufgrund der Schwere des gesamten Krankheitsbildes letal (außer G.W. und B.K.). Es läßt sich aber ein Zusammenhang erkennen zwischen Überlebensdauer und Titer-Höhe. Je höher die Titer im IgG und IgA waren, desto länger war die Überlebensdauer (Tab.7).

Tab.7: Überlebensdauer der Sepsispatienten und Titer-Höhe

Patient	Titer IgG	Titer IgA	Überlebensdauer
D.H.	9,59	5,12	133 Tage
L.H.	7,63	4,93	37 Tage
W.B.	2,09	8,02	5 Tage
St.Ch.	1,23	4,38	5 Tage
St.A.	1,05	1,06	3 Tage

Ein Antikörpernachweis durch die passive Hämagglutination gelang bei keinem der Sepsispatienten.

2. Patienten mit oder ohne klinische Entzündungserscheinungen und positiven Antikörper-Titern im ELISA

Zu dieser Gruppe gehörten die Patienten St.M., R.J., Wa.M. und Sch.H. Die Patienten wiesen eine geringe Leukozytose (bis 10 000), eine Temperaturerhöhung (bis 38°C) oder als Zeichen einer chronischen Infektion eine Eisenmangelanämie und eine Senkungsbeschleunigung (R.J.) auf. Die mäßig erhöhten Antikörper-Titer gegen *Ps. aeruginosa* und die klinischen Zeichen einer Entzündung weisen darauf hin, daß *Ps. aeruginosa* bei diesen Patienten Ursache einer chronischen Infektion ist. Beim Patienten Sch.H. waren alle Entzündungsparameter normal. Im ELISA jedoch waren hohe Titer nachzuweisen. Das läßt den Schluß zu, daß der Patient trotz fehlender klinischer Zeichen an einer Infektion mit *Ps. aeruginosa* leidet.

Zwei der drei Patienten mit positivem Hämagglutinations-Titer gehören zu dieser Gruppe. (Vom Patienten Sch.He. konnten die klinischen Daten nicht eruiert werden.)

Das Serum von Sch.H. ergab einen Titer von 1:10240 mit dem Antigen vom homologen Serotyp. Die Hämagglutination mit dem patienteneigenen Stamm war jedoch negativ.

Das Serum von R.J. reagierte nur mit dem Patientenstamm (Titer 1:40), nicht mit dem homologen Serotyp.

3. Patienten ohne klinische Entzündungszeichen mit negativen Antikörper-Titern im ELISA

Hier sind die Patienten zu nennen, bei denen *Ps. aeruginosa* isoliert worden war, die aber keinerlei Infektionszeichen boten und bei denen im ELISA kein Antikörper-Titer festzustellen war (K.A., S.K.). Hier kann man davon ausgehen, daß Kolonisierung durch *Ps. aeruginosa* vorlag.

Auch bei diesen Patienten gelang ein Antikörpernachweis durch die passive Hämagglutination nicht.

Die Frage, welche Immunglobulinfraktion die spezifischen und protektiven Antikörper enthält, ist vielfach diskutiert worden.

SENSAKOVIC et al. (1977) haben per Hämagglutination hohe IgM- und nur niedrige IgG-Titer gefunden, und sie sind der Meinung, daß die IgM-Antikörper die Patienten schützen. BJORNSON et al. (1970) haben im Mäuseversuch in der IgG- und IgM-Fraktion Antikörper nachgewiesen, sind aber der Ansicht, daß nur die IgG-Antikörper protektive Wirkung entfalten. Zum gleichen Ergebnis sind CROWDER et al. (1972), sowie FISHER (1977) und ALEXANDER et al. (1974) gekommen. YOUNG (1972a und 1974b) hat Antikörper in der IgG- und IgM-Fraktion festgestellt mit größerer Protektivität der IgM-Antikörper. LIEBERMAN et al. (1979) haben nachgewiesen, daß sowohl IgG- als

auch IgM-Antikörper protektive Wirkung entfalten. Derselben Meinung sind auch JONES et al. (1972) und ZINNER et al. (1976). Sie haben gleichzeitig gezeigt, daß, zu Beginn einer Infektion mit *Ps. aeruginosa* Antikörper vom Typ IgM auftreten, die im weiteren Verlauf der Erkrankung durch IgG-Antikörper ersetzt werden. (HØIBY 1979). Am Verlauf des Patienten D.H. konnte der gleiche zeitliche Ablauf gezeigt werden. In der Frühphase der Infektion sind IgM-Antikörper nachzuweisen gefolgt von einem Anstieg der IgA- und IgG-Antikörper. So erklären sich die positiven Titer im IgG und/oder IgA und negative im IgM. Der initiale IgM-Anstieg kann übersehen worden sein durch zu späten Nachweis des *Ps. aeruginosa* oder durch zu späte Blutabnahme.

Ob die IgA-Antikörper - wie bei einer *Yersinia*-Arthritis festgestellt (GRANSFORS et al. 1980) - länger als die IgG-Antikörper nachgewiesen werden können und so zur Diagnose einer abgelaufenen *Ps. aeruginosa*-Infektion herangezogen werden können, bleibt noch zu untersuchen.

Damit im ELISA nur solche Antikörper erfaßt werden, die spezifisch gegen *Ps. aeruginosa* gerichtet sind, waren zwei Voraussetzungen nötig:

1. Bei der Präparation des LPS wurde ein möglichst hoher Reinheitsgrad angestrebt.
2. Das Serum wurde mit demjenigen Antigen getestet, das dem Serotyp des Patientenstammes entsprach.

Die Tatsache, daß drei Patientenserum mit den höchsten Antikörper-Titern mit LPS von E.coli genauso niedrig reagierten wie die Kontrollseren, läßt den Schluß zu, daß es sich hier um Antikörper handelt, die spezifisch gegen das Endotoxin von Ps. aeruginosa gerichtet sind.

Die Korrelation zwischen den durch indirekte Hämagglutination erfaßten Serumtiterwerten und der klinischen Symptomatik war unbefriedigend. So konnte hier bei keiner der nach klinischer Symptomatik sowie klinisch-chemischer, hämatologischer und bakteriologischer Daten abgeklärten Infekte mit Ps. aeruginosa ein signifikanter Titer ermittelt werden. Die eindeutig bessere Beziehung zwischen ELISA-Titern und Infektparametern sollte auf die wesentlich höhere Empfindlichkeit und Spezifität dieser Nachweismethode zurückzuführen sein.

Nach unseren Ergebnissen ist beim labordiagnostischen Versuch, zwischen Kolonisation und Infektion durch Ps. aeruginosa zu differenzieren, dem zwar aufwendigeren, aber brauchbare Resultate liefernden ELISA der Vorzug zu geben.

5. Zusammenfassung

Serum von Patienten, bei denen *Ps. aeruginosa* nachgewiesen worden war, wurde auf spezifische Antikörper gegen das Lipopolysaccharid von *Ps. aeruginosa* untersucht. Zum Nachweis der Antikörper wurde der Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) verwendet. Die Empfindlichkeit des ELISA wurde mit der Sensitivität der passiven Hämagglutination verglichen. Die Untersuchungen führten zu folgendem Ergebnis:

1. Im Vergleich mit der passiven Hämagglutination ist der ELISA eine sehr viel empfindlichere und spezifischere Methode zum Antikörpernachweis.
2. In den Immunglobulinfractionen IgG, IgA und IgM sind Antikörper nachzuweisen.
3. Die Antikörper sind gegen das Lipopolysaccharid von *Ps. aeruginosa* gerichtet.
4. Die Frühphase einer *Ps. aeruginosa*-Infektion ist gekennzeichnet durch einen Anstieg der IgM-Antikörper. Im weiteren Verlauf der Erkrankung steigen IgG und IgA an.
5. Mit Hilfe des ELISA scheint es möglich, zu entscheiden, ob ein Patient an einer Infektion mit *Ps. aeruginosa* erkrankt ist oder ob es sich um eine ober-

flächliche Kolonisation handelt und damit die Indikation für antibakterielle Chemotherapie über den bakteriologischen Nachweis von *Pseudomonas aeruginosa* hinaus zu präzisieren.

6. Literatur

- ADAM, D.: Der aktive Einfluß von Faktoren des Wirtsorganismus auf die antimikrobielle Wirksamkeit von Chemotherapeutika. Habilitationsschrift (1972)
- ALEXANDER, J.W., FISHER, M.W.: Immunization against *Pseudomonas* in Infection after Thermal Injury. *J.Infect.Dis.*, Vol.S130, S152 (1974)
- BARRETT, D.J., ANMANN, A.J., STENMARK, S., WARA, D.A.: Immunoglobulin G and M Antibodies to Pneumococcal Polysaccharides Detected by Enzyme Linked Immunosorbent Assay. *Infect.Immun.*, Vol.27, No.2, S.411 (1980)
- BAUERNFEIND, A.: Zur Epidemiologie von Infektionen mit *Pseudomonas aeruginosa*. (in Vorbereitung)
- BAUERNFEIND, A., PETERMÜLLER, Ch., BURROWS, J.R.: Modifiziertes Verfahren zur Pyocintypisierung von *Pseudomonas aeruginosa*. *Zbl.Bakt.Hyg., I.Abt.Orig.A* 240, S.271, (1978)
- BAUERNFEIND, A., BURROWS, J.R.: Suggested Procedure Allowing Use of Plastic Petri Dishes in Bacteriocin Typing. *Applied and Environmental Microbiology*, Vol.35, No.5, S.970 (1978)
- BJORNSON, A.B., MICHAEL, J.G.: Biological Activities of Rabbit Immunoglobulin M and Immunoglobulin G Antibodies to *Ps. aeruginosa*. *Infect.Immun.*, Vol.2, No.4, S.453 (1970)

- CROWDER, J.G., WHITE, A.: A serologic response in human *Pseudomonas* infection.
J.Lab.Clin.Med.75, S.128, (1970)
- CROWDER, J.G., FISHER, M.W., WHITE, A.: Type-specific immunity in *pseudomonas* diseases.
J.Lab.Clin.Med.79, No.1, S.47. (1972)
- FISHER, M.W.: A Polyvalent Human IgG-Globulin Immune to *Pseudomonas aeruginosa*: Passive Protection of Mice against Lethal Infection.
J.Infect.Dis., Vol.S136, S181 (1977)
- GONGGRIJP, R., VOLLEBERG, M.P.W., VAN BOYEN, C.F.A.: Evidence for the Presence of Lipopolysaccharide in a Ribonuclease-Sensitive Vaccine of *Pseudomonas aeruginosa*.
Infect.Immun., Vol.31, No.3, S.896 (1981)
- GRANSFORS, K., VILJANEN, M., TIILIKAINEN, A., TOIVANEN, A.: Persistence of IgM, IgG and IgA Antibodies to *Yersinia* in *Yersinia* Arthritis.
J.Infect.Dis., Vol.141, No.4, S.424 (1980)
- HØIBY, N.: Immunity - Humoral Response in "*Pseudomonas aeruginosa*", Herausgeber R.G.DOGGETT, S.157 (1979)
- JONES, R.J., HALL, M., RICKETTS, C.R.: Passive Properties of Serum Fractions from Mice Inoculated with an Anti-*Pseudomonas* Vaccine.
Immun.23, S.889 (1972)

- KEREN, D.F.: Enzyme Linked Immunosorbent Assay for IgG and IgA Antibodies to *Shigella flexneri* Antigens.
Infect.Immun., Vol.24, No.2, S.441 (1979)
- KNAPP, U.: Die Wunde. Thieme Verlag Stuttgart 1981
- LAMB, V.L., JONES, L.M., SCHURIG, G.G., BERMAN, D.T.: Enzyme Linked Immunosorbent Assay for Bovine Immunoglobulin Subclass-Specific Response to *Brucella abortus* Lipopolysaccharides.
Infect.Immun., Vol.26, No.1, S.240 (1979)
- LIEBERMAN, M.M., McKISOCK, D.C., WRIGHT, G.L.: Passive Immunization Against *Pseudomonas* with a Ribosomal Vaccine-Induced Serum and Immunoglobulin Fractions.
Infect.Immun., Vol.23, No.2, S.509 (1979)
- MANSHEIM, B.J., KASPERS, D.L.: Detection of Anticapsular Antibodies to *Bacteroides asaccharolyticus* in Serum from Rabbits and Humans by Use of an Enzyme Linked Immunosorbent Assay.
J.Infect.Dis., Vol.140, No.6, S.945 (1979)
- MUTCHNICK, M.G., KEREN, D.F.: In vitro synthesis of antibody to specific bacterial lipopolysaccharide by peripheral blood mononuclear cells from patients with alcoholic cirrhosis.
Immun., Vol.43, S.177 (1981)

- NETER, E.: *Pseudomonas aeruginosa* Infection and Humoral Antibody Response of Patients with Cystic Fibrosis.
J.Infect.Dis., Vol.S130, S132 (1974)
- RISSING, R.P., BUXTON, T.B., EDMONDSON, H.T.: Detection of Specific IgG Antibody in Sera from Patients with *Bacteroides fragilis* by Enzyme Linked Immunosorbent Assay.
J.Infect.Dis., Vol.140, No.6, S.994 (1979)
- SENSAKOVIC, J.W., BARTELL, P.F.: Glykolipoprotein from *Pseudomonas aeruginosa* as a Protective Antigen Against *Ps. aeruginosa* Infection in Mice.
Infect.Immun., Vol.18, No.2, S.304 (1977)
- SHIGETA, S., YASUNAGA, Y., OGATA, M.: Type-Specific Indirect Hemagglutination Antibody in Patients with *Pseudomonas aeruginosa* Infection.
J.Clin.Microbiology, Vol.8, No.5, S.489 (1978)
- VOLLER, A., BIDWELL, D.E., BARTLETT, A.: Enzyme Immunoassays in diagnostic medicine.
Bull.World Health Org., Vol.53, S.55 (1976)
- VOS, J.G., BUYS, J., HANSTEDDE, J.G., HAGENAARS, A.M.: Comparison of Enzyme Linked Immunosorbent Assay and Passive Hemagglutination Method for Quantification of Antibodies to Lipopolysaccharide and Tetanus Toxoid in Rats.
Infect.Immun., Vol.24, No.3, S.798 (1979)

- WESTPHAL, O., LÜDERITZ, G., BISTER, F.: Über die Extraktion von Bakterien mit Phenol/Wasser.
Z.Naturforschung 7b, S.148 (1952)
- YOUNG, L.S., YU, B.H., ARMSTRONG, D.: Agar-Gel Precipiting Antibody in *Pseudomonas aeruginosa* Infections.
Infect.Immun., Vol.2, S.495 (1970)
- YOUNG, L.S., ARMSTRONG, D.: Human Immunity to *Pseudomonas aeruginosa*. I. In-vitro Interaction of Bacteria, Polymorphnuclear Leukocytes, and Serum Factors.
J.Infect.Dis., Vol.126, No.3, S.257 (1972a)
- YOUNG, L.S.: Crit.Rev.Clin.Lab.Sci.3, S.291 (1972b)
- YOUNG, L.S.: Opsonizing Antibodies and Prognosis in *Pseudomonas aeruginosa* Septicemia.
Clin.Res.22, 187A (1974a)
- YOUNG, L.S.: Role of Antibody in Infections due to *Pseudomonas aeruginosa*.
J.Infect.Dis., Vol.S130, S111 (1974b)
- ZINNER, St.H., MCCABE, W.R.: Effects of IgM and IgG Antibody in Patients with Bacteriemia Due to Gramnegative Bacilli.
J.Infect.Dis., Vol.133, No.1, S.37 (1976)

Lebenslauf

Am 4. August 1955 wurde ich, Barbara Höbel, als Tochter des Tierarztes Dr. Benedikt Höbel und dessen Ehefrau Mathilde Höbel, geborene Pölsterl, in München geboren.

Im Herbst 1961 wurde ich in Babenhausen/Schwaben eingeschult. Nach vierjährigem Besuch der Volksschule trat ich im Herbst 1965 in das Gymnasium St. Maria in Kaufbeuren ein. Von dort wechselte ich im Herbst 1968 in das Simpert-Kraemer-Gymnasium Krumbach, wo ich im mathematisch-naturwissenschaftlichen Zweig 1974 mein Abitur ablegte.

Im Wintersemester 1974/75 begann ich an der Ludwig-Maximilian-Universität München das Studium der Humanmedizin.

Das Staatsexamen legte ich 1980 in München ab.

Bis August 1981 arbeitete ich an meiner Dissertation bei Herrn Prof. Dr. A. Bauernfeind im Max von Pettenkofer-Institut München.

Im August 1981 nahm ich meine Tätigkeit als Assistenzärztin in der chirurgischen Abteilung des Kreiskrankenhauses Krumbach auf.

